

나문재(*Suaeda glauca* (Bunge) Bunge) 추출물과 분획물의 효능에 관한 연구

†이 광 수 · 박 경 속
장안대학교 건강과학부 식품영양과 부교수

A Study of Effects of *Suaeda glauca* (Bunge) Bunge Extract and Its Fractions

†Kwang-Soo Lee and Kyung-Sook Park
Associate Professor, Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Whasung 18331, Korea

Abstract

In this study, *S. glauca* (Bunge) Bunge extract was testified total polyphenol contents, electron donating ability on DPPH, and scavenging ability of superoxide anion radical and hydrogen peroxide. Total polyphenol contents of *S. glauca* (Bunge) Bunge extract were 7,053.30±915.93 µg GAE/mL. In the fractions, fraction by ethanol was the highest content of 10,973.30±1,000.24 µg GAE/mL. Fractions of ethyl acetate and water were 2,386.70±166.53 µg GAE/mL, 2,413.30±41.63 µg GAE/mL respectively. It was shown that total content of polyphenol according to solvent was significant relation at $p<0.05$. In the experiment of the electron donating ability, 70% ethanol extract and methylene chloride fraction were $-246.15\pm24.17\%$, $-254.01\pm 16.54\%$ respectively. In case of ethyl acetate fraction, it was the highest electron donating ability to DPPH radical, $39.06\pm0.34\%$, and then water fraction of $36.71\pm5.55\%$, ethanol fraction of $29.77\pm2.57\%$, gradually. Electron donating abilities revealed significant difference ($p<0.05$) between the solvents. The superoxide radical scavenging ability of standard material was 0.029 ± 0.0011 ; 70% ethanol extract of 0.022 ± 0.00052 , methylene chloride fraction of 0.027 ± 0.00031 , ethyl acetate fraction of 0.024 ± 0.0011 , ethanol fraction of 0.021 ± 0.00024 and water fraction of 0.024 ± 0.00019 . Hydrogen peroxide scavenging ability of 70% ethanol extract was -0.0029 ± 0.00040 and the others were as follow; methylene chloride fraction (-0.0042 ± 0.00058), ethyl acetate fraction (-0.003 ± 0.0041), ethanol fraction (-0.0029 ± 0.0015) and water fraction (-0.0028 ± 0.00090).

Key words: *S. glauca* (Bunge) Bunge, total polyphenol contents, electron donating ability, superoxide anion radical

서 론

활성산소종(reactive oxygen species, RODS)으로는 $\cdot\text{OH}$ (hydroxyl radical), $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\text{ROO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$, $\cdot\text{OOH}$, H_2O_2 , $\text{NO}\cdot$ 등이 있으며, 이들은 황 함유 아미노산(cysteine and methionine)의 단백질에 심각한 영향을 주거나(Ezraty 등 2017), 효소 내 금속의 산화(Jena NR 2019), 미토콘드리아 내의 항상성과 밀접한 관련이 있는 mitochondrial permeability transition pore(mPTP) openings 에도 영향을 주며(Zorov 등 2014), 단백질의 구아닌 염기와의 반응에 의한 돌연변이나 암과 관련한 질환(Jena NR 2012), 지

질 과산화나 단백질 산화 그리고 멜라닌 생성반응 촉진 등으로 생체 구성 성분들의 손상을 일으켜서 탄력감소나 주름살 및 기미·주근깨 등의 피부노화를 가속화(Park SN 1997)하는 것으로 알려져 있다. 그리고 태양광선에 의해서 일어날 수 있는 광노화는 태양광선 중의 자외선에 의한 것으로 노출되는 피부에 많은 양의 자외선이 노출되면 활성산소종이 생성이 되고, 이러한 활성산소종의 지속적인 생성은 피부의 효소적 혹은 비효소적 항산화 방어계에 영향을 미친다(Park SN 2003). 식물에서 생리활성 물질을 추출하고, 이를 활용하여 인체에 유해한 활성산소의 제거능 혹은 피부에서의 항노화 효과에

† Corresponding author: Kwang-Soo Lee, Associate Professor, Dept. of Food & Nutrition, Jangan University, Whasung 18331, Korea. Tel: +82-31-299-3068, Fax: +82-31-299-3609, E-mail: lkss2920@jangan.ac.kr

대한 연구가 진행되고 있는데, 토인삼 추출물에서의 항산화 및 항노화 효과(Oh 등 2013), 섬쭉부쟁이 분획물에서의 항산화 및 항염증 활성(Kim 등 2010), 고려엉겅퀴 추출물이 자외선으로 유도된 MMP-1 발현 저해와 피부 탄력 개선 효과(Sim 등 2007), 소리쟁이 뿌리 열수 추출물의 항산화 효과(Yun & Jeong 2012), 한국 산채류 8종 추출물에서의 peroxynitrite 소거효과(Agung 등 2011), 추출용매에 따른 국내산 대나무 잎의 추출물에서의 항산화 활성(Kim 등 2018), 누에분말에 의한 혈청 중의 활성산소 제거와 관련한 연구(Choi 등 1999), 활성산소 조절에 의한 만병초의 c-JUN/ MMP-1 저해효과(Lee 등 2017), 녹차 폴리페놀을 첨가한 화장품의 압 세포증식억제 효과(An 등 2007), 대극과 식물로부터 분리한 천연폴리페놀의 멜라닌 생성 억제효과(Kim 등 2004) 등 피부 개선과 연계한 연구가 다양한 소재를 활용하여 꾸준히 연구되고 있다.

나문재[*Suaeda glauca* (Bunge) Bunge]는 석죽목 명아주과로 바닷가에 자라는 한해살이 풀이다. 주로 바닷가 모래땅이나 개설 혹은 염전 등에서 서식하며, 생김새는 줄기가 곧고 작은 가지가 많이 갈라져 있으며, 우리나라에서는 제주도와 서해안에 분포되어 있고, 어린 순은 데쳐서 나물이나 볶음 또는 비빔밥의 재료로 사용되고 있다. 전 세계에 알려진 나문재속은 100여종으로 주로 해안지역이나 내륙사막 등의 염분농도가 높은 지역에 분포하는 것으로 알려져 있으며(Jeong YJ 1992), 한반도에는 나문재[*Suaeda glauca* (Bunge) Bunge], 칠면초(*S. japonica* Makino), 해홍나물[*S. maritima* (L.) Dumort]이 흔한 것으로 알려져 있고, 2001년에는 나문재속에 속하는 한반도 미기록식물 1종이 보고되기도 하였다(Sim 등 2001). 나문재과 관련한 연구는 매우 미약하다. 나문재 추출물 함유 크림의 안정성 평가와 관련한 연구(Jeon 등 2007a), 나문재 추출물의 에틸아세테이트 분획물에 대한 성분 분석(Yang & Park 2008), 한국산 나문재속의 종내·종간 RAPD marker 변이(Shim & Choi 2004), 함초(나문재 및 통통마디) 추출물의 항산화 작용(Jeon 등 2007b) 등이 국내에서 연구되었으며, 최근에는 새로운 isoflavane인 suaeglaucin A를 *Saeda glauca*.에서 분리·동정하여 이들 중 두 유도체에서만 항산화에 활성이 있는 것을 규명(Wang 등 2018) 등 매우 제한적인 연구만이 수행되어 있을 뿐만 아니라, 이를 활용한 산업도 거의 없는 실정이다. 본 연구는 나문재가 갖는 특성에 대한 기초자료를 제공함과 더불어 향후 식품산업이나 화장품 산업으로 접목할 수 있는 기초자료의 제공뿐만 아니라, 생리적 활성에 영향을 주는 물질의 분리 및 구조를 규명하는 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료, 시약 및 기구

본 연구에 사용된 *S. glauca* (Bunge) Bunge는 3월과 4월경에 화성시 제부도 인근에서 채취하여 물로 씻은 후에 냉동보관을 하였고, 본 실험을 하기 전에 해동하여 다시 증류수로 3회 반복하여 씻은 다음에 건조하지 않고 분쇄하여 실험에 사용하였다.

Folin-Ciocalteu법에 사용된 Folin & Ciocalteu's phenol reagent와 전자공여능 측정에 사용된 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl(DPPH)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. 추출 용매로 사용된 methylene chloride, ethyl acetate, ethanol 등은 Daejung(Incheon, Korea) 제품을 사용하였다. Superoxide anion radical 제거에 사용된 cytochrome C, xanthine, sodium deoxycholate와 xanthine oxidase는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA) 제품을 사용하였으며 명시되지 않은 시약은 1급(95% 이상) 시약을 사용하여 실험하였다. 시료의 분쇄에 사용된 분쇄기는 ProBlend 6(Philips, Netherland)를 사용하였고, Vortex Mixer는 Thermolyne사(Iowa, USA)의 Type 37600 Mixer를 이용하였다. TECAN사(Salzburg, Austria) Infinite 200 PRO NanoQuant UV/VIS Spectrophotometer로 전자공여능 측정, 폴리페놀 함량 측정, superoxide anion radical 제거능 측정 그리고 hydrogen peroxide 제거능 측정을 하였다. 냉장 혹은 냉동이 필요한 시료와 시약은 Infobiotech사(Daejeon, Korea) IBK-1200RF에 보관하였고, 항온조는 LAB PARTNER사(Seoul, Korea) PSHWB-30을 사용하였다.

2. *Suaeda glauca* (Bunge) Bunge의 추출 및 분리

S. glauca (Bunge) Bunge의 추출과 분획 과정은 Fig. 1과 같다. 먼저 냉동된 *S. glauca* (Bunge) Bunge를 해동과 함께 증류수로 3회 씻은 다음에 ProBlend 6 분쇄기로 5분간 분쇄하였고, 70% ethanol에 상온에서 48시간 정치하여 추출하는 방법으로 3회 추출하였다. 각각의 추출물은 여과를 한 후에 모았고, 모은 여과액은 감압 하에 농축하였으며, 정량적인 분석보다는 생리적 활성 성분에 대한 효능만을 확인하는 과정이기에 분말화 하지 않은 상태에서 극성을 달리하는 용매로 분획을 하였다. 분획하기 이전에 추출물이 항산화성, 폴리페놀류 함량, superoxide 제거능 그리고 hydrogen peroxide 제거능에 대한 측정을 하여 모든 실험에서 영향을 주는 것으로 나타났다, 이 결과는 분획하여 얻은 분획물과의 효능 비교에도 활용하였다. 폴리페놀류의 함량 측정은 표준 검정선에 적합한 농도인 50배로 희석하여 측정하였고, 그 결과는 실제 함량으로 환산하여 나타내었다. *S. glauca* (Bunge) Bunge 추출

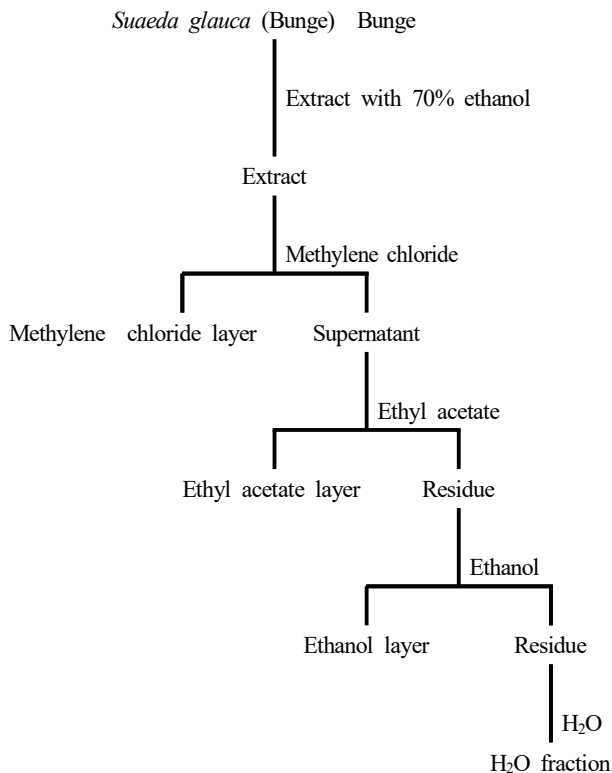


Fig. 1 The scheme of fractionation of *S. glauca* (Bunge) Bunge extraction.

물의 분획은 선택한 용매 중에서 극성이 가장 작은 methylene chloride부터 시작하여 용매의 극성이 증가하는 순서로 분획을 하였다. 먼저 70%로 추출한 농축액의 10배에 해당하는 부피의 methylene chloride를 넣고 충분히 저어 준 후에 분액 깔대기에서 분리를 시켜 methylene chloride 층을 상등액으로부터 분리하는 방법으로 3회 반복하여 분획하였으며, 각각의 methylene chloride 분획물은 합친 후에 감압 하에 용매를 날려 버리고 5 mL의 증류수에 재 용해시켜서 실험에 사용하였다. Ethyl acetate 분획물은 분액 깔대기의 상등액을 취하는 방법으로 methylene chloride 분획물을 분획시킨 방법과 동일한 방법으로 하였으며, 분획된 ethyl acetate 분획물은 5.0 mL의 증류수에 재 용해시켜서 실험에 사용하였다. Ethanol의 분획은 ethyl acetate 분획과 동일한 방법으로 분획을 하였으며, ethanol로 분획한 후에 남은 잔여물은 5.0 mL의 증류수에 모두 용해시켜서 실험에 사용하였다. 각 분획물의 농도에 따른 효과도 중요하지만, 본 실험은 정량적인 분석보다는 분획된 분획물의 효능에 중점을 두어서 정성적인 부분만을 고려하였다.

3. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu법(Singleton &

Rossi 1965)에 따라서 측정하였다. *S. glauca* (Bunge) Bunge를 70% ethanol로 추출하여 농축한 추출물은 100배로 희석을 한 후에 폴리페놀 함량 측정을 하였으며, methylene chloride와 물 분획물은 각각 100배, ethyl acetate와 ethanol 분획물은 각각 200배 희석하여 실험에 사용하였다. 희석배율의 결정은 측정된 O.D. 값들이 표준 검량선의 범위 안에 들어가는 것을 선택하여 결정하였다. 먼저 희석한 시료액 400 μ L를 취하여 물 3.0 mL에 혼합하고, Folin-Ciocalteu reagent 200 μ L와 포화 Na_2CO_3 용액 400 μ L를 같이 혼합한 다음에 vortex mixer에서 강하게 저어준 다음, 상온에서 1시간 정치시킨 후에 UV 측정을 한다. UV 측정은 UV spectrophotometer(Infinite 200 PRO NanoQuant UV/VIS Spectrophotometer, TACAN, Salzburg, Australia)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량 산출은 표준물질로 사용한 gallic acid로 표준 검량선을 구하였고, 총 폴리페놀 함량은 gallic acid equivalents (GAE μ g/mL extract)로 환산하였다.

4. 전자공여능 측정

S. glauca (Bunge) Bunge의 전자공여능 측정은 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)를 이용하여 Lee & Park(2015)의 방법에 준하여 전체 부피를 조정하는 방법으로 실험을 하였다. *S. glauca* (Bunge) Bunge를 70%로 추출하여 농축한 추출물과 이 추출물을 methylene chloride, ethyl acetate, methanol 그리고 증류수로 분획한 분획물은 희석하지 않고 전자공여능 측정을 하였다. 즉, 95% 에탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 800 μ L에 추출물 혹은 분획물을 20 μ L를 첨가하였고, 혼합물은 vortex mixer에서 강하게 저어준 다음 1시간 동안 37°C의 항온조에서 정치시킨 후에 UV 측정을 한다. UV측정은 UV spectrophotometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정한다. 추출물과 각 분획물의 전자공여능(EDA%) 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{Electron donating ability(EDA\%)} =$$

$$[1 - (A_{\text{experiment}}/A_{\text{blank}})] \times 100$$

A experiment : 시료가 첨가된 반응물의 흡광도

A blank : 시료가 첨가되지 않은 대조군

5. Superoxide anion radical의 제거능

Superoxide anion radical 제거능의 실험은 McCord & Fridovich (1968)에 의한 방법으로 실험하였다. 70% ethanol 추출물과 70% 추출물을 methylene chloride, ethyl acetate, methanol 그리고 물로 분획한 분획물을 시료 색깔에 따른 오차를 최소화하기 위하여 50배로 희석한 용액을 만들어서 측정하였다. 즉, 0.1 mM EDTA를 함유하는 50 mM 인산염 완충액(pH 7.8)

2.1 mL와 50 μ M KCN 0.1 mL, 0.5 mM xanthine 0.3 mL, 1% sodium deoxycholate 0.1 mL에 xanthine oxidase 0.1 mL 혼합한 용액(시료를 넣지 않은 상태에서 흡광도가 0.02 되게 조절한 것), 0.1 mM cytochrome c 0.3 mL를 넣고 vortex mixer로 강하게 혼합한 시료를 UV spectrometer를 사용하여 550 nm에서 흡광도 변화를 2분간 측정하여 얻은 흡광도 변화를 standard로 한다. 추출물과 분획물들은 standard 측정과 동일하게 시약들을 혼합하고, 최종적으로 50배로 희석한 시료액 10 μ L를 넣고 vortex mixer에서 강하게 혼합 후에 550 nm에서 흡광도의 변화를 2분 동안 측정하여 흡광도 변화를 기록하여 standard와의 흡광도 변화에 대한 차이로 superoxide anion radical의 제거능을 판단하였다.

6. Hydrogen peroxide 제거능 측정

Hydrogen peroxide 제거능 측정은 시료 용액을 hydrogen peroxide 용액에 가하여 240 nm에서 흡광도 변화를 1분간 관찰하고, 이를 1분 동안에 1 μ M의 H₂O₂를 분해하는 능력을 1 unit로 하는 측정방법이다(Aebi H 1974). Superoxide anion radical의 제거능 측정과 마찬가지로 70% ethanol 추출물과 70% 추출물을 methylene chloride, ethyl acetate, methanol 그리고 물로 분해한 분획물의 시료 색깔에 따른 오차를 최소화하기 위하여 50배로 희석한 용액을 만들어서 측정하였다. 즉, 50 mM 인산염 완충액(pH 7.0) 2.0 mL에 시료 10 μ L와 기질 10 mM H₂O₂용액 1.0 mL를 가한 후 240 nm에서 1분 동안 흡광도 변화를 관찰하고 얻은 흡광도 차이를 1 μ M의 H₂O₂를 분해하는 능력으로 하였다.

7. 자료의 통계처리

모든 실험결과는 3회 이상 반복 실행하여 얻었고, 평균 \pm 표준편차로 산출하였다. 모든 자료의 통계처리는 Statistical Package for the Social Science Program(SPSS, version 25)을 사용하여 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, 실험군 간의 유의성은 Duncan multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. *S. glauca* (Bunge) Bunge 추출

냉동된 780.0 g의 *S. glauca* (Bunge) Bunge를 해동하여 증류수로 씻은 후에 분쇄한 것을 70% ethanol로 48시간 상온에서 정치하는 방법으로 추출을 3회 하였고, 여과와 감압하에 농축을 거쳐서 65.23 g을 얻어 8.35%의 수득율을 얻었다. Jeon 등(2007a)은 건조한 나문재(*Suaeda asparagoides*)의 추출에서 100% ethanol에서는 1.4%의 수득율, 50% ethanol에서는

7.4%의 수득율을 보고하여 수용성 물질이 많이 존재하는 것으로 보고하여 70% ethanol로 추출한 본 실험과 유사한 것으로 나타났다.

2. 총 폴리페놀 함량

S. glauca (Bunge) Bunge 추출물과 분획물의 총 폴리페놀 함량은 Table 1에 나타내었다. 70% ethanol 추출물의 총 폴리페놀 함량은 7,053.30 \pm 915.93 μ g GAE/mL로 나타났고, 극성을 달리하여 70% ethanol 추출물에서 분획한 분획물에서는 ethanol로 분획한 분획물이 10,973.30 \pm 1,000.24 μ g GAE/mL로 가장 높은 함량을 보였으며, ethyl acetate로 추출한 분획물은 2,386.70 \pm 166.53 μ g GAE/mL, 물의 분획물은 이와 유사한 2,413.30 \pm 41.63 μ g GAE/mL로 나타났고, methylene chloride의 분획물은 1,393.30 \pm 223.01 μ g GAE/mL로 나타나 methylene chloride 분획물이 가장 낮게 나타났다. 이는 폴리페놀 화합물은 한 분자 내에 두 개 이상의 페놀성 하이드록시기(OH)를 갖고 있어서 극성이 큰 용매 쪽으로 용출되므로 극성이 낮은 용매에서의 함량은 낮은 것으로 사료된다. Lee & Park(2018)은 좁은잎산사나무 열매에서의 70% methanol 추출물에는 28,708.0 \pm 1755.05 μ g GAE/mL가 함유된 것으로 발표하여 *S. glauca* (Bunge) Bunge에서의 총 폴리페놀 화합물의 함량이 좁은잎산사나무 열매보다 낮은 것으로 나타났으나, 용매별로의 분획에서 알코올에 의한 분획에서 가장 많은 총 폴리페놀 함량이 나타난 것은 일치하였다. 이러한 결과는 낙상홍의 분획에서도 methanol의 분획이 가장 많은 총 폴리페놀 함량을 나타내 본 실험과 동일한 결과를 보였다(Lee KS 2017). Ethanol 분획물의 총 폴리페놀 함량이 70% ethanol 추출물보다 높게 나타났는데, 섬쭉부쟁이 분획물에서 ethyl acetate 분

Table 1. The total polyphenol contents of *S. glauca* (Bunge) Bunge extract and its fractions

Extraction solvents	Total polyphenols(μ g/mL) ¹⁾
70% ethanol	7,053.30 \pm 915.93 ^a
MC fraction	1,393.30 \pm 223.01 ^{ab}
EA fraction	2,386.70 \pm 166.53 ^{bc}
EtOH fraction	10,973.30 \pm 1,000.27 ^{bc}
water fraction	2,180.00 \pm 0.00 ^{bc}
F value	129.589 [*] (0.000)

¹⁾ Total polyphenol content was expressed as μ g/mL gallic acid equivalents(GAE).

The data are displayed with mean \pm standard deviation(n=3).

^{*} Means with different letters(^{a-c}) within a column are significantly different at $p < 0.05$.

MC: methylene chloride, EA: ethyl acetate, EtOH: ethanol

획물이 7.91±0.07 mgTAE/g으로 메탄올 추출물 6.77±0.43 mgTAE/g보다 더 높게 나타난 것은 phenolic hydroxyl기의 활성물질이 메탄올 추출물에서 ethyl acetate 분획물로 더욱 이행한 것으로 추정된 것(Kim 등 2010)과 같은 맥락으로 고려할 수 있다. 버섯류의 총 폴리페놀 함량 분석에서 뽕나무버섯 배양 발아액에서 22.57 mg GAE/100mL, 목질진흙버섯 발아액은 18.92 mg GAE/100mL, 느타리 발아액은 18.53 mg GAE/100mL, 표고 발아액은 16.59 mg GAE/100mL로 발표하여(Hong 등 2014) 본 실험보다는 조금 높은 것으로 나타났다. 탈지미세조류로부터 폴리페놀 추출에서는 열수를 이용한 추출이 다른 유기용매에 비해 우수한 것으로 보고하여(Choi 등 2016) 본 연구와는 상이한 결과를 나타내고 있으나, 추출물 대상의 성장 환경도 상이하고 더구나 추출 조건이 다른 상황이므로 단순한 수치만으로 비교를 하는 것은 적절치 않으나, 동일한 조건에서 추출하여 비교해 볼 필요는 있는 것으로 본다. 용매에 따른 총 폴리페놀 함량은 유의적인 관계가 있는 것으로 나타났다($p<0.05$).

3. 전자공여능 측정(Electron Donating Ability Measurement)

DPPH 라디칼은 매우 안정한 자유 라디칼로 이 라디칼을 제거하는 정도에 따라서 항산화 작용을 평가하고 있다. *S. glauca* (Bunge) Bunge의 DPPH 라디칼의 제거하는 정도를 측정한 결과는 Table 2에 나타났다. 70% ethanol 추출물과 methylene chloride 분획물에서는 각각 -246.15±24.17%, -254.01±16.54%로 오히려 라디칼을 생성하는 것으로 나타났으며, ethyl acetate 분획물에서 39.06±0.34%로 가장 높은 소거능을 보였고, water 분획물에서는 36.71±5.55%, ethanol 분획물에서는 29.77±2.57%로 DPPH 라디칼을 소거하는 순으로 나타났다. 70% ethanol 추출물과 methylene chloride 분획물에서는 DPPH 라디칼의 소거보다는 2.5배 정도를 증가시키는 것으로 나타났는데, 이는 DPPH에서의 라디칼을 증가시켰다고 판단하는 데는 무리가 있고, 이 실험에서 사용되는 파장에 해당하는 물질의 유입이 특정 용매에서 증가한 것에 따른 것으로 사료된다. 그 이유로는 methylene chloride로 분획한 후에 ethanol로 분획한 분획물에서는 29.77±2.57%로 DPPH 라디칼을 소거하는 것으로 나타나 알코올 용해성 물질이 DPPH의 라디칼을 증가시킨다고 판단하기에는 무리가 있지만, 이에 대한 규명은 필요하다고 본다. Jeon 등(2007b)은 건조한 나문재(*Suaeda asparagoides*)와 건조한 통통마디(*Salicornia herbacea*)를 50% ethanol로 추출한 추출물의 항산화 활성 측정에서 40.73±0.21%, 1,300.03±13.72%로 소거능이 있는 것으로 본 실험과는 전혀 다른 결과를 나타내었으나, ethyl acetate 분획물에서는 각각 13.87±1.38%, 23.21±1.02%로 ethyl acetate 분획물에서는 본 실험의 결과와 유사함을 보였다. Yang & Park

Table 2. Electron donating ability of *S. glauca* (Bunge) Bunge extract and its fractions

Extraction solvents	Electron donating ability(EDA) ¹⁾
70% ethanol	-246.15±24.17 ^a
MC fraction	-254.01±16.54 ^{ab}
EA fraction	39.06±0.34 ^{bc}
EtOH fraction	29.77±2.57 ^{bcd}
water fraction	36.71±5.55 ^{be}
F value	409.305*(0.000)

¹⁾ Electron donating ability(EDA) content was %.

The data are displayed with mean±standard deviation(n=3).

* Means with different letters(^{a-c}) within a column are significantly different at $p<0.05$.

MC: methylene chloride, EA: ethyl acetate, EtOH: ethanol

(2008)은 나문재(*Suaeda asparagoides*) 추출물의 항산화 작용은 ethyl acetate 분획물에 함유된 quercetin과 kaempferol이 작용한 것으로 발표하였다. Lee & Park(2016)의 낙상홍 추출물과 분획물의 항산화성 실험에서 ethyl acetate 분획물의 DPPH 라디칼 소거능이 24.05±1.75%, methanol 분획물이 84.08±1.95%로 알코올 분획물에서의 DPPH 라디칼 소거능이 높은 것(Mo 등 2013; Lee KS 2017; Jang JS 2018)으로 발표하여 본 실험과는 상이함을 보였으나, 추출시료의 상태와 종에 따른 차이 등 많은 요인들이 작용할 것으로 사료되어 이에 대한 연구도 필요하며, 분획물에 대한 구성 성분 분석과 함량 분석이 이루어지면 많은 부분에서 설명될 것으로 사료된다. 특히, 70% ethanol 추출물과 methylene chloride로 분획한 분획물에서는 모두 DPPH의 라디칼이 증가하는 것으로 나타나 기능성 식품으로 활용 시에는 이에 대한 명확한 규명이 먼저 선행되어야 한다. 각 용매에 따른 전자공여능은 유의적인 관계가 있는 것으로 나타났다($p<0.05$).

4. Superoxide radical anion 제거능 측정

S. glauca (Bunge) Bunge 추출물과 분획물의 superoxide radical anion 제거능 측정 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 본 실험은 추출물이나 분획물의 색소에 의한 오차를 최소화 하기 위하여 추출물과 분획물의 농도를 50배로 희석하여 실험하였다. 표준물질에서의 superoxide radical anion 제거능은 0.029±0.0011에 대하여 70% ethanol 추출물에서는 0.022±0.00052, methylene chloride 분획물에서는 0.027±0.00031, ethyl acetate 분획물은 0.24±0.0011, ethanol 분획물은 0.021±0.00024 그리고 water 분획물에서는 0.024±0.00019로 모든 부분에서 superoxide radical anion을 제거하는 것으로 나타났으며, 특히 ethanol 분획물에서 가장 높은 제거능이 있는 것으

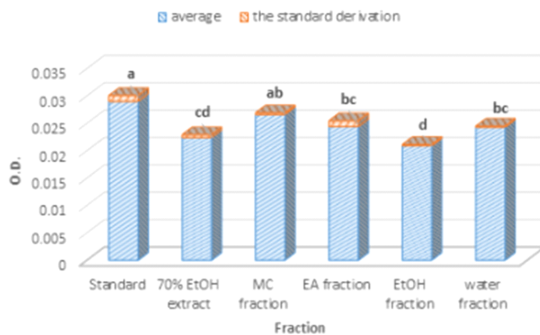


Fig. 2. The measurement of superoxide anion radical depending of extract and fractions. The data are presented as mean±standard deviation(n=3). Means with different letters (^{a-d}) within a column are significantly different at $p < 0.05$. STD: standard, EtOH: ethanol, MC: methylene chloride, EA: ethyl acetate.

로 나타났다. 전체적으로 50배로 희석하였다 하여 실제 농도에서도 이에 비례하여 제거능이 상승한다고는 말할 수 없지만, 실험에서 나타난 효과보다는 클 것으로 예상된다. Lee KS(2017)의 맥문동 열매 추출물 실험에서도 모든 분획물에서 superoxide radical anion을 제거하지만 메탄올의 분획물에서 가장 높은 superoxide radical anion 제거능을 나타낸 것으로 보고하여 본 실험과 같은 결과를 보였다. 그러나 Lee & Park(2018)의 산사열매 추출물과 분획물에서는 ethyl acetate 분획물에서만 superoxide radical anion이 감소하였고, 다른 분획물에서는 오히려 증가함을 보여 본 실험과는 상이함을 보였고, Eom 등(2011)의 *P. trifoliata* 추출물과 분획물에서도 ethyl acetate 분획물의 superoxide radical-scavenge activity가 methanol이나 *n*-butanol보다 높은 것으로 보고하였다. 또한, 낙상홍 추출물(Lee & Park 2016), 피라칸타 열매의 추출물(Lee KS 2017)의 실험에서도 ethyl acetate 분획물에서 가장 높은 superoxide radical anion 제거능이 있는 것으로 발표하였고, 이들 모두 붉은 색 계열 혹은 노란색 계열의 열매에 의한 추출물들인 반면에 methanol 혹은 ethanol 분획물에서 가장 높은 superoxide radical anion 제거능을 보인 것은 푸르거나 녹색 계열의 추출물이어서 이에 대한 연관성에 대한 규명이 필요하다.

5. Hydrogen peroxide 제거능 측정

S. glauca (Bunge) Bunge 추출물과 분획물에 대한 hydrogen peroxide 제거능 측정은 색소에 의한 오차를 최소화 하기 위하여 모든 시료를 50배로 희석하여 실험하였고, 그 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. 즉, 70% ethanol 추출물의 hydrogen peroxide 제거능은 -0.0029 ± 0.00040 , methylene chloride 분획물은

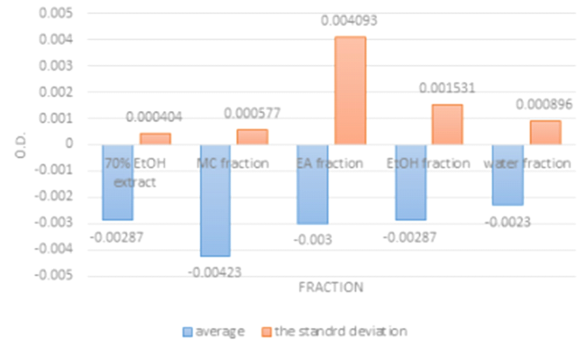


Fig. 3. The measurement of hydrogen peroxide decomposition depend on extract and fractions. The data are presented as mean±standard deviation(n=3). STD: standard, EtOH: ethanol, MC: methylene chloride, EA: ethyl acetate.

-0.0042 ± 0.00058 , ethyl acetate 분획물은 -0.003 ± 0.0041 , ethanol 분획물은 -0.0029 ± 0.0015 그리고 water 분획물은 -0.0028 ± 0.00090 으로 methylene chloride 분획물에서 가장 높은 제거능이 있는 것으로 나타났으며, 또한 추출물과 분획물의 모든 부분에서 마이너스를 보여 전체적으로 hydrogen peroxide 제거능이 있음을 보였다. Eom 등(2011)은 *Poncirus trifoliata* 추출물의 hydrogen peroxide에 의해서 세포가 손상되는 것을 방지하는 효과가 있음을 발표하였고, Geetha 등(2003)은 홀리바질(*Ocimum sanctum*) 추출물에서는 추출물의 원액이 알코올 분획보다 hydrogen peroxide 제거능이 높았으며, 물로 추출한 것을 diethyl ether와 ethyl acetate로 분획한 분획물의 hydrogen peroxide 제거능이 12.5 μ g 과 10 μ g에서 IC_{50} 을 보였으며 이는 ascorbic acid가 8 μ g에서 IC_{50} 을 보인 것과 동일한 항산화 효과가 있는 것으로 발표하였고, 본 연구에서 극성이 낮은 methylene chloride와 ethyl acetate 분획에서 가장 효과적인 hydrogen peroxide 제거능이 나타난 것과 같은 결과를 나타냈다. Methylene chloride 분획분과 ethyl acetate 분획분에서 나타나는 hydrogen peroxide 제거능과 관련한 물질의 분리 동정 및 구조 규명을 통한 식품산업이나 화장품 산업으로의 연계를 위한 추후 연구가 필요하다고 사료된다.

요약 및 결론

S. glauca (Bunge) Bunge를 70% ethanol로 추출하고, 이를 극성을 달리하는 용매(methylene chloride, ethyl acetate, ethanol, water)로 분획한 분획물에 대하여 총 폴리페놀 함량 측정, DPPH에 대한 전자공여능 실험, superoxide anion radical의 제거능 실험 그리고 hydrogen peroxide 제거능 측정을 한 결과는 다음과 같다. 70% ethanol로 48시간 상온에서 정치하는 방법으로 3회 반복하여 추출하였고, 여과와 감압 하에 농축을

거쳐서 65.23 g을 얻어 8.35%의 수득율을 얻었다. *S. glauca* (Bunge) Bunge을 70% ethanol로 추출한 추출물의 총 폴리페놀 함량은 7,053.30±915.93 µg GAE/mL로 나타났고, 극성을 달리하여 70% ethanol 추출물에서 분획한 분획물에서는 ethanol로 분획한 분획물이 10,973.30±1,000.24 µg GAE/mL로 가장 높은 함량을 보였으며, ethyl acetate로 추출한 분획물은 2,386.70±166.53 µg GAE/mL, 물의 분획물은 이와 유사한 2,413.30±41.63 µg GAE/mL로 나타났고, methylene chloride의 분획물은 1,393.30±223.01 µg GAE/mL로 나타나 methylene chloride 분획물이 가장 낮게 나타났다. 이는 폴리페놀 화합물은 한 분자 내에 두 개 이상의 페놀성 하이드록시기(OH)를 갖고 있어서 극성이 큰 용매 쪽으로 용출되므로 극성이 낮은 용매에서의 함량은 낮은 것으로 사료된다. 용매에 따른 총 폴리페놀 함량은 $p < 0.05$ 에서 유의적인 관계가 있음을 보였다. DPPH에 대한 전자공여능 측정에서 70% ethanol 추출물과 methylene chloride 분획물에서는 각각 $-246.15 \pm 24.17\%$, $-254.01 \pm 16.54\%$ 로 오히려 라디칼을 생성하는 것으로 나타났으며, ethyl acetate 분획물에서 $39.06 \pm 0.34\%$ 로 가장 높은 소거능을 보였고, water 분획물에서는 $36.71 \pm 5.55\%$, ethanol 분획물에서는 $29.77 \pm 2.57\%$ 로 DPPH 라디칼을 소거하는 순으로 나타났다. 70% ethanol 추출물과 methylene chloride 분획물에서는 DPPH 라디칼의 소거보다는 2.5배 정도를 증가시키는 것으로 나타났는데, 이는 DPPH에서의 라디칼을 증가시켰다고 판단하는 데는 무리가 있고, 이 실험에서 사용되는 파장에 해당하는 물질의 유입이 특정 용매에서 증가한 것에 따른 것으로 사료된다. 그 이유로는 methylene chloride로 분획한 후에 ethanol로 분획한 분획물에서는 $29.77 \pm 2.57\%$ 로 DPPH 라디칼을 소거하는 것으로 나타나, 알코올 용해성 물질이 DPPH의 라디칼을 증가시킨다고 판단하기에는 무리가 있지만 이에 대한 규명은 필요하다고 본다. 분획용매에 따른 전자공여능은 유의적인 관계가 있음을 보였다($p < 0.05$). 표준물질에서의 superoxide radical anion 제거능은 0.029 ± 0.0011 에 대하여 70% ethanol 추출물에서는 0.022 ± 0.00052 , methylene chloride 분획물에서는 0.027 ± 0.00031 , ethyl acetate 분획물은 0.24 ± 0.0011 , ethanol 분획물은 0.021 ± 0.00024 그리고 water 분획물에서는 0.024 ± 0.00019 로 모든 부분에서 superoxide radical anion을 제거하는 것으로 나타났으며, 특히 ethanol 분획물에서 가장 높은 제거능이 있는 것으로 나타났다. 전체적으로 50배로 희석하였다 하여 실제 농도에서도 이에 비례하여 제거능이 상승한다고는 말할 수 없지만 실험에서 나타난 효과보다는 클 것으로 예상되며, 분액용매에 따른 superoxide anion radical 제거능은 유의적인 것으로 나타났다($p < 0.05$). 70% ethanol 추출물의 hydrogen peroxide 제거능은 -0.0029 ± 0.00040 , methylene chloride 분획물은 -0.0042 ± 0.00058 , ethyl acetate 분획물은 -0.003 ± 0.0041 , ethanol 분획물은 $-0.0029 \pm$

0.0015 그리고 water 분획물은 -0.0028 ± 0.00090 으로 methylene chloride 분획물에서 가장 높은 제거능이 있는 것으로 나타났으며, 또한 추출물과 분획물의 모든 부분에서 마이너스를 보여 전체적으로 hydrogen peroxide 제거능이 있음을 보였으나, 분액용매에 따른 hydrogen peroxide 제거능은 유의적이지 않은 것으로 나타났다($p > 0.05$). Methylene chloride 분획분과 ethyl acetate 분획분에서 나타나는 hydrogen peroxide 제거능과 관련한 물질의 분리 동정 및 구조 규명을 통한 식품산업이나 화장품 산업으로의 연계를 위한 추후 연구가 필요하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 장안대학교 2019년도 자체연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Aebi H. 1974. Catalase. In Bergmeyer HU (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*. 2nd ed. pp.673-684. Academic Press
- Agung N, Kim MH, Lee JH, Kim JD, Lee KR, Choi JS, Yoo YM, Park HJ. 2011. Polyphenol analysis and peroxy nitrite scavenging effect of the extracts from eight Korean mountainous vegetable. *Korean J Pharmacogen* 42:38-45
- An BJ, Park TS, Lee JY, Park GH, Hyun SJ, Lee JT, Cho YJ, Kim YS. 2007. Growth inhibitory effect of irradiated green tea polyphenol addition in cosmetic composition. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50:217-223
- Choi JH, Kim DI, Park SH, Kim DW, Lee JS, Lee HS, Ryu KS. 1999. Effects of silkworm powder on oxygen radicals and their scavenger enzymes in serum of rats. *Korean J Seric Sci* 41:141-146
- Choi K, Lee J, Jo J, Shin S, Kim JW. 2016. Optimization of hot-water extraction conditions of polyphenolic compounds from lipid extracted microalgae. *Korean Chem Eng Res* 54:310-314
- Eom SH, Heo SJ, Lee DS, Lee MS, Kim YM, Jung WK, Kim YM. 2011. Radical scavenging activity of *Poncirus trifoliata* extracts and their inhibitory effect against hydrogen peroxide induced cell damage. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 54: 479-487
- Ezraty B, Gennaris A, Barras F, Collet JF. 2017. Oxidative stress, protein damage and repair in bacteria. *Nat Rev Microbiol* 15:385-396

- Geetha S, Kedlaya R, Vasudevan DM. 2003. Superoxide and hydrogen peroxide scavenging action of *Ocimum sanctum* extracts and their fractions. *Nat Prod Sci* 9:223-225
- Hong IP, Woo SO, Han SM, Yeo JH, Cho ML. 2014. Germination and antioxidant activity of Korean oak pollen treated with medicinal mushrooms. *Korean J Mycol* 42: 165-169
- Jang JS. 2018. Antioxidant activities of *Liriope platyphylla* L. extracts obtained from different solvents. *Korean J Food Nutr* 31:543-548
- Jena NR. 2012. DNA damage by reactive species: Mechanisms, mutation and repair. *J Biosci* 37:503-517
- Jena NR. 2019. Manganese-coordinated tyrosine bio materials for the sensing of reactive oxygen species. *J Chem Select* 4:6945-6953
- Jeon SM, Ahn JY, Park SN. 2007a. A study on the stability test for the cream containing *Suaeda asparagoides* extract. *J Soc Cosmet Sci Korea* 33:231-238
- Jeon SM, Kim SI, Ahn JY, Park SN. 2007b. Antioxidative properties of extract/fractions of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts (I). *J Soc Cosmet Sci Korea* 33:145-152
- Jeong YJ. 1992. A taxonomic study of the Korean Chenopodiaceae. Ph.D. Thesis, Sungkyunkwan Univ. Suwon. Korea
- Kim DS, Choi MH, Shin H. 2018. Polyphenol contents and antioxidant activities of domestic bamboo leaves with different extraction solvents. *J Adv Eng Tech* 11:7-13
- Kim HH, Park GH, Park KS, Lee JY, An BJ. 2010. Anti-oxidant and anti-inflammation activity of fractions from *Aster glehni* Fr. Schm. *Korean J Microbiol Biotechnol* 38:434-441
- Kim JA, Choi JY, Son AR, Park SH, Xu GH, Lee JG, Oh IS, Kim JJ, Chang HW, Chung SR, Jang TS, Lee SH. 2004. Inhibitory effect of some natural polyphenols isolated from euphorbiaceae plants on melanogenesis. *Korean J Pharmacogn* 35:157-163
- Lee JB, Park SA, Kang SM. 2017. c-Jun/MMP-1 inhibitory effect of *Rhododendron brachycarpum* via reactive oxygen species (ROS) regulation. *J Invest Cosmetol* 13:313-319
- Lee KS, Park KS. 2015. A study of effects of coffee waste extracts obtained from solvents. *Korean J Food Nutr* 28:866-870
- Lee KS, Park KS. 2016. A study of effects of *Ilex serrata* Thumb extracts. *Korean J Food Nutr* 29:946-951
- Lee KS, Park KS. 2018. A study of effects of *Crataegus pinnatifida* var. *psilosa* extracts. *Korean J Food Nutr* 31:775-782
- Lee KS. 2017. A study of antioxidant effects of *Pyracantha angustifolia* (Franch.) C. K. Schneid extract. *Korean J Food Nutr* 30:1286-1291
- McCord JM, Fridovich I. 1968. The reduction of cytochrome *c* by milk xanthine oxidase. *J Biol Chem* 243:5753-5760
- Mo JH, Oh SJ, Kim KR. 2013. Comparison on the antioxidative activity of ethanol and hot water extracts of *Phragmites rhizoma*. *J Korean Soc Cosmetol* 19:809-814
- Oh JY, Kim JH, Lee GS, Zhang YH, Pyo HB. 2013. Antioxidative and anti-aging effects of extract from *Talinum paniculatum*. *J Soc Cosmet Sci Korea* 39:313-322
- Park SN. 1997. Skin aging and antioxidants. *J Soc Cosmet Sci Korea* 23:75-132
- Park SN. 2003. Reactive oxygen species, photoaging and natural product. *J Soc Cosmet Sci Korea* 29:75-77
- Shim HB, Choi BH. 2004. RAPD marker variations between and within the species of Korean *Suaeda*. *Korean J Plant Tax* 34:63-74
- Sim GS, Kim JH, Lee DH, Lee BC, Lee GS, Pyo HB. 2007. The inhibition of UVA-induced matrix metalloproteinase-1 in human dermal fibroblasts and the improvement of skin elasticity by *Cirsium setidens* extract. *J Soc Cosmet Sci Korea* 33:181-187
- Sim HB, Jeong JY, Choe BH. 2001. One unrecorded species from Korea: *Suaeda malacosperma* Hara. *Korean J Plant Tax* 31:383-387
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158
- Wang QZ, Qiu P, Liu F, Wang B, Guan FQ, Feng X, Xu S. 2018. Suaeglaucin A, a new coumaronochromone from *Suaeda glauca*. *J Asian Nat Prod Res* 20:1081-1087
- Yang HJ, Park SN. 2008. Component analysis of *Suaeda asparagoides* extracts. *J Soc Vosmet Sci Korea* 34:157-165
- Yun YS, Jeong KS. 2012. Polyphenol contents of *Rumex crispus* root extract with hot water and its antioxidative effect. *J Env Sci* 21:1265-1274
- Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. 2014. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. *Physiol Rev* 94:909-950

Received 08 October, 2019

Revised 13 October, 2019

Accepted 18 October, 2019